转 Bt 基因水稻表达的毒蛋白 Cry1Ab 在害虫及其捕食者体内的积累动态

姜永厚[1,2,3]，傅 强[3]，程家安[1*]，祝增荣[1]，蒋明星[1]，叶恭银[1]，张志涛[3]
(1. 浙江大学应用昆虫学研究所，杭州 310029；2. 浙江理工大学生物工程研究所，杭州 310018；
3. 中国水稻研究所水稻生物学国家重点实验室，杭州 310006)

摘要：在室内对转基因水稻 KMD1 中的 Cry1Ab 毒蛋白经食物链在几种主要害虫及其捕食性天敌体内的积累进行了研究。结果表明：无论是水稻孕穗期还是成熟期，二化螟 *Chilo suppressalis* 连续取食 KMD1 或取食 KMD1 36 h 后移至对照品种秀水 11 上取食不同时间后，幼虫体内的 Cry1Ab 含量均随取食时间延长逐渐下降。稻眼蝶 *Mycalesis gotama* 幼虫连续取食 KMD1 或在 KMD1 上取食两天后移至秀水 11 上继续取食不同时间，体内的 Cry1Ab 含量也都随取食时间延长而下降，但下降速度较二化螟更快。取食 KMD1 的二化螟和稻眼蝶幼虫的粪便中均检测到较高浓度的 Cry1Ab，对照组中均无 Cry1Ab。取食 KMD1 的二化螟幼虫血淋巴中检测到 Cry1Ab，含量为 3.5 ng/g。取食 KMD1 的褐飞虱 *Nilaparvata lugens*、稻蚜 *Sitobion avenae* 以及饲喂取食过 KMD1 的二化螟或稻眼蝶幼虫的拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus* 体内都含有一定浓度的 Cry1Ab，其中，拟水狼蛛体内的 CrylAb 含量以饲喂取食 KMD1 稻眼蝶幼虫的含量最高，约为饲喂取食 KMD1 二化螟幼虫的 60 倍。这些结果表明 Cry1Ab 可以沿水稻-害虫-天敌食物链传递。

关键词：转 Bt 基因水稻；Cry1Ab 蛋白；害虫；天敌；食物链
中图分类号：Q968 **文献标识码**：A **文章编号**：0454-6296(2004)04-0454-07

Dynamics of Cry1Ab protein from transgenic Bt rice in herbivores and their predators

JIANG Yong-Hou[1,2,3], FU Qiang[3], CHENG Jia-An[1*], ZHU Zeng-Rong[1], JIANG Ming-Xing[1], YE Gong-Yin[1], ZHANG Zhi-Tao[3] (1. Institute of Applied Entomology, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Institute of Bioengineering, Zhejiang University of Sciences, Hangzhou 310018, China; 3. State Key Laboratory of Rice Biology, China National Rice Research Institute, Hangzhou 310006, China)

Abstract: Levels of Cry1Ab protein in several herbivores and their predators through food chain from transgenic Bt rice (KMD1) were studied in the laboratory. The results showed that the levels of Cry1Ab in stripped stem borer (SSB) *Chilo suppressalis* continuously feeding on KMD1 or on Xushui 11 control rice after feeding on KMD1 for 36 h declined with time at the booting stage as well as at the maturing stage. Levels of Cry1Ab in *Mycalesis gotama* continuously feeding on KMD1 or on Xushui 11 control rice after feeding on KMD1 for two days declined with time, but more dramatically than those of SSB. High levels of Cry1Ab were detected in faeces of both *C. suppressalis* and *M. gotama*, but no Cry1Ab detected in their controls. 3.5 ng/g Cry1Ab was detected in the haemolymph of *C. suppressalis* feeding on KMD1. Different levels of Cry1Ab were all detected in brown planthopper (BPH) *Nilaparvata lugens*, rice aphid (RA) *Sitobion avenae* reared on KMD1, and wolf spider (WS) *Pirata subpiraticus* fed with preys that had ingested KMD1. The concentration of Cry1Ab protein in *P. subpiraticus* fed with *M. gotama* larvae reared on KMD1 was about 60 times higher than that in *P. subpiraticus* fed with *C. suppressalis* reared on KMD1 for 36 h, and no Cry1Ab protein was detected in their controls. These results indicated Cry1Ab protein could be transferred along food chain.

Key words: Transgenic Bt rice; Cry1Ab protein; herbivore; predator; food chain

化学杀虫剂带来的农药残留、环境污染和害虫 抗性等问题，迫使科学家们寻找其他害虫防治措施。

基金项目：国家重点基础研究发展规划 973 项目(001CB109004)；国家自然科学基金项目(30070500)
作者简介：姜永厚，男，1971 年生，江苏赣榆人，博士生，研究方向为昆虫生理生态及生物安全，现在浙江理工大学工作，E-mail: yonghoujiang@vip.sina.com
* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: jacheng@zju.edu.cn
收稿日期 Received: 2004-02-03；接受日期 Accepted: 2004-06-16

现代生物技术，尤其是基因工程技术的发展，使一些常规育种技术无法进行的不同物种之间的基因交流成为可能。*Bacillus thuringiensis*（Bt）是一种革兰氏阳性芽孢细菌。大多数 Bt 菌株含有不同的杀虫晶体蛋白（ICPs）组合，而不同的 ICPs 对不同类群的昆虫有毒性作用（Schnepf *et al*.，1998）。Bt 制剂作为防治农业和林业害虫的一种主要生物农药已有几十年的历史（Head *et al*.，2001）。目前，100 多种 Bt 毒素基因已被克隆和测序，许多已被转入植物用于防治害虫（主要是鳞翅目和鞘翅目）的为害（Frutos *et al*.，1999）。其中转 Bt 基因抗虫玉米、棉花、马铃薯和番茄等已商业化生产（Raps *et al*.，2001；Shelton *et al*.，2002；Nap *et al*.，2003）。

尽管在转基因植物中表达的 Bt 毒蛋白的杀虫活性没有改变，但因其通常是在整个生长季节及植物的大部分组织中表达，从而引起了人们对种植转基因植物的环境忧虑（Williamson，1992；Jepson *et al*.，1994）。其中之一就是转基因植物通过食物链对非靶标生物，如捕食者和寄生者可能产生影响（Hilbeck *et al*.，1998a，b，1999；Schuler *et al*.，1999）。目前对转基因玉米、马铃薯和棉花中表达的 Bt 毒蛋白在害虫和天敌体内的积累情况已有报道（Armer *et al*.，2000；Head *et al*.，2001；Raps *et al*.，2001；Dutton *et al*.，2002；Lundgren and Wiedenmann，2002；Howald *et al*.，2003；张桂芬等，2004），但尚未见转 *cry1Ab* 基因水稻表达的 Bt 毒蛋白在害虫及其天敌体内积累情况的报道。

褐飞虱（BPH）*Nilaparvata lugens* 和二化螟（SSB）*Chilo suppressalis* 是在水稻上为害严重的两种害虫（巫国瑞等，1987；李安详和李慈厚，1996）。稻眼蝶 *Mycalesis gotama* 和稻蚜（RA）*Sitobion avenae* 则是偶发性的害虫。其中，二化螟为取食稻茎（3 龄以后）的钻蛀性害虫，稻眼蝶为食叶性害虫，褐飞虱和稻蚜分别为刺吸叶鞘下部和穗部的害虫。拟水狼蛛（WS）*Pirata subpiraticus* 是水稻田最为重要的天敌之一，对控制害虫种群数量有着非常重要的作用（王洪全和颜亨梅，1996）。本实验以上述几种具有代表性的害虫和天敌作为研究对象，研究了转 *cry1Ab* 基因水稻表达的 Bt 毒蛋白经食物链在害虫及其天敌体内的积累情况，从而为转基因水稻的生态风险评价提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料

1.1.1　供试水稻品种：转 *cry1Ab* 基因水稻“克螟稻 1 号”（KMD1）由浙江大学和加拿大渥太华大学合作培育，其亲本材料为粳稻品种秀水 11。

1.1.2　供试虫源：（1）二化螟采自中国水稻研究所科研基地试验田，自试验田收集越冬代老熟幼虫，于室内化蛹、羽化，或用灯诱法诱集成虫带回室内，饲以 10% 蜂蜜液，让其在稻苗上产卵，收集卵块，待其孵化后，用尚稚珍等（1979）的水稻种苗饲养法进行饲养，建立实验室种群。（2）稻眼蝶来源于中国水稻研究所科研基地试验田，于水稻生长早期用捕虫网采集成虫，在室内放有盆栽 TN1 感虫水稻的 80 cm × 80 cm × 100 cm 四周围有纱网的木笼内饲养，饲以 10% 蜂蜜液，让其在稻苗上产卵、孵化和取食，定期更换水稻，繁殖二代后取三龄左右幼虫用于试验。（3）褐飞虱为中国水稻研究所累代连续饲养的实验种群。（4）稻蚜和拟水狼蛛采自中国水稻研究所科研基地试验田。拟水狼蛛单头饲养在罐头瓶内，底部加一薄层水，深约 0.5 cm，定期更换新鲜猎物。

饲养条件：试验中上述昆虫及拟水狼蛛均在温度为 27℃ ± 2℃，湿度为 75% ± 5%，光周期为 16L：8D 的养虫室内饲养。

1.2　害虫及拟水狼蛛的处理

1.2.1　二化螟幼虫：将粗细相同的孕穗期水稻茎杆一段（10 cm），置于 2 cm × 15 cm 试管中，基部用湿棉球保湿，作为供试饲料。每管放两头大小较一致的 5 龄幼虫（高龄幼虫对 KMD1 相对不敏感，毒蛋白摄入量较多），进行两种处理，一种是分别连续取食 KMD1 茎杆 12 h、24 h、36 h、48 h、60 h 和 72 h；另一种是取食 KMD1 茎杆 36 h 后转移至秀水 11 上继续取食 12 h、24 h、36 h、48 h 和 60 h，每一时间处理共 30 ~ 40 头幼虫。用成熟期水稻茎杆重复上述实验一次。同时收集取食孕穗期 KMD1 或秀水 11 茎杆 36 h 的二化螟幼虫的粪便，上述处理过的活虫及粪便各放入 1.5 mL 离心管，保存于 −20℃冰箱。

幼虫血淋巴的采集：按上述的方法分别让 5 龄幼虫在 KMD1 和秀水 11 茎杆上取食 36 h，用吸水纸吸干虫体表面的水份，然后用昆虫针刺破幼虫腹足，直接用 10 μL 的移液枪各吸取血淋巴 120 μL，放入 0.5 mL 离心管，保存于 −20℃冰箱，重复 3 次。

1.2.2　稻眼蝶幼虫：毒蛋白的积累动态：选 50 头大小较一致的 3 龄幼虫接至上述笼内的盆栽秀水 11 上，在 0 天、2 天、4 天、6 天和 8 天后分别挑 10 头幼虫至不同盆栽 KMD1 上，笼罩饲养，然后分别将已在 KMD1 上取食 9 天、7 天、5 天、3 天和 1 天的幼虫及取

食孕穗期 KMD1 或秀水 11 后 3 天的稻眼蝶幼虫的粪便挑至 1.5 mL 离心管内，于 -20℃冰箱保存。

毒蛋白的降解动态：将 50 头大小较一致的 3 龄幼虫接至一盆栽 KMD1 的笼内取食 2 天，然后全部挑至不同笼内的秀水 11 上，分别饲养 0 天、2 天、4 天、6 天和 8 天后，挑至 1.5 mL 离心管内，每一处理时间 10 头，保存于 -20℃冰箱。

1.2.3 褐飞虱：将雌、雄成虫配对后置于栽有成熟期 KMD1 的笼内产卵、孵化，并不定期更换新 KMD1，直至发育为成虫，用吸虫管吸至 1.5 mL 离心管，于 -20℃冰箱保存。以秀水 11 作对照。让其在 KMD1 上取食一个世代可能会积累更多的毒蛋白。

1.2.4 稻蚜：将低龄的若蚜分别群体饲养在孕穗期 KMD1 和秀水 11 上，一周后采集高龄若虫和成虫，放入 1.5 mL 离心管，于 -20℃冰箱保存。

1.2.5 拟水狼蛛：试验前将拟水狼蛛成蛛饥饿 48 h，然后分别饲喂一头已在孕穗期 KMD1 茎上取食 36 h 的 5 龄二化螟和一头孵化后一直在孕穗期 KMD1 上取食的与 5 龄二化螟大小较一致的 2~3 龄稻眼蝶幼虫，每 12 h 观察一次二化螟和稻眼蝶的被食情况，持续两天，一旦发现二化螟和稻眼蝶幼虫被食尽，就将拟水狼蛛挑至 1.5 mL 离心管内，共处理各 10 头左右；同时将 6~8 头刚取食过 1 头在 KMD1 上饲养的稻眼蝶的拟水狼蛛饥饿 10 天，用于测定 Cry1Ab 在拟水狼蛛体内的代谢情况，样品均保存于 -20℃冰箱。以饲喂取食秀水 11 的二化螟或稻眼蝶的拟水狼蛛作对照。

1.3 Cry1Ab 蛋白含量的测定

Bt-Cry1Ab/Ac ELISA 平板试剂盒由美国 Agida 公司提供，包括包被好抗体的 96 孔板和配套试剂，标准 Cry1Ab 蛋白（美国 Envirologix 公司）浓度分别是 0、0.5、2.5 和 5.0 ng/g。按照试剂盒说明的方法进行测定。每次实验同时做 1~2 个重复的 Cry1Ab 标样，用以制作标准曲线。需注意的是要保证稀释溶液的 Cry1Ab 浓度不超过标样的最高浓度 5.0 ng/g。所有结果均由酶标仪读取，设置波长为 450 nm。将结果换算成每克鲜重含有的 Bt 杀虫蛋白量（ng）。

水稻组织、供试昆虫及蜘蛛的样品量、重复次数见表 1。

1.4 数据分析

数据的整理采用微软的 Excel 2000 软件，数据的分析采用唐启义和冯明光（2002）的 DPS 数据处理软件。数据通过倒数转换后进行方差分析，用 Ducan 氏新复极差法进行多重比较。

2 结果

2.1 KMD1 植株中 Cry1Ab 的含量

对孕穗期和成熟期 KMD1 茎和孕穗期 KMD1 叶片中 Cry1Ab 含量的测定结果表明，不同生育期及不同部位的含量均存在明显差异，成熟期稻茎中的 Cry1Ab 含量约 22.3 μg/g，仅为孕穗期稻茎的 51.5%，而同为孕穗期的茎中 Cry1Ab 含量仅是叶片中的 48.1%（表 1）。

2.2 二化螟体内 Cry1Ab 含量的变化

取食成熟期 KMD1 茎的二化螟幼虫体内 Cry1Ab 含量显著低于取食孕穗期的幼虫（$F = 11.02$；$P = 0.0029$），而且无论是孕穗期还是成熟期，二化螟连续取食 KMD1 后 Cry1Ab 的含量变化均表现较为一致的趋势，即 24 h 后随时间延长含量逐渐下降；但取食孕穗期 KMD1 时，幼虫体内 Cry1Ab 含量下降速率明显较取食成熟期 KMD1 的慢，至 60 h 差异方达显著水平（$P < 0.05$）（图 1：A）。取食 KMD1 36 h 后移至对照秀水 11 取食不同时间，Cry1Ab 的含量变化均表现为依时间而不断下降的趋势，尤其是 24 h 后显著下降（$P < 0.05$）（图 1：B）。

2.3 稻眼蝶体内 Cry1Ab 含量变化

在连续取食 KMD1 条件下，稻眼蝶体内 Cry1Ab 的含量并不随取食时间的延长而增加，反而呈下降趋势，尤其是在第 3 天下降幅度最大，达 37.6%，至第 5 天下降为第 1 天的 49.7%，差异显著（$P < 0.05$），随后则缓慢下降（图 2）。

在 KMD1 上取食两天后移至秀水 11 上继续取食不同时间，稻眼蝶体内 Cry1Ab 含量随时间的推移而急剧下降，在 KMD1 上取食两天后 Cry1Ab 含量达 5.0 μg/g 鲜重，而移至秀水 11 上取食 6 天后即降为 0.7 ng/g 鲜重，已低于准确定量检测低限（表 2）。

2.4 取食 KMD1 的二化螟粪便和血淋巴以及稻眼蝶粪便中 Cry1Ab 含量

在取食 KMD1 水稻的二化螟和稻眼蝶幼虫粪便中均检测到较高浓度的 Cry1Ab，分别约 8.3 μg/g 和 6.9 μg/g 鲜重，而它们的对照组中均未检测到 Cry1Ab（表 1）。取食 KMD1 的二化螟血淋巴及取食秀水 11（对照）的二化螟血淋巴中均检测到少量 Cry1Ab，不过取食 KMD1 的 Cry1Ab 含量要显著大于对照组的含量（$P < 0.05$），分别为 3.5 ng/g 和 1.0 ng/g，对照血淋巴中 Cry1Ab 阳性可能是由于其他杂蛋白的交叉反应或样品污染。

表 1　ELISA 法测定转基因水稻 KMD1、植食性昆虫及其粪便和拟水狼蛛的 Cry1Ab 含量[1)]

Table 1　Cry1Ab contents in transgenic rice KMD1, herbivores and their faeces, and the predator *Pirata subpiraticus* by ELISA[1)]

分析对象 Material analyzed	鲜重(mg) Fresh weight	重复数 n	Cry1Ab(ng/g 鲜重) Cry1Ab (ng/g FW)
茎 Stem			
KMD1 孕穗期 Booting stage	20.0	2	43 204.8 ± 4 942.0 a
KMD1 成熟期 Maturing stage	20.0	2	22 271.0 ± 1 563.5 b
秀水 11(对照)XS 11 (CK)	20.0	2	0 c
孕穗期叶 Leaf of booting stage			
KMD1	20.0	2	89 750.0 ± 8 918.8 a
秀水 11(对照)XS 11 (CK)	20.0	2	0 b
褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (BPH)			
取食 KMD1 Fed KMD1	102.3	4	56.6 ± 5.6 a
取食秀水 11(对照)Fed XS 11 (CK)	90.7	3	0 b
稻蚜 *Sitobion avenae* (RA)			
取食 KMD1 Fed KMD1	116.3	2	20.6 ± 12.4 a
取食秀水 11(对照)Fed XS 11 (CK)	95.7	2	0 b
二化螟粪便 *Chilo suppressalis* (SSB) Faeces			
取食 KMD1 Fed KMD1	20.0	4	8 335.7 ± 1 840.1 a
取食秀水 11(对照)Fed XS 11 (CK)	20.0	2	0 b
稻眼蝶粪便 *Mycalesis gotama* faeces			
取食 KMD1 Fed KMD1	20.0	2	69 374.0 ± 1 312.0 a
取食秀水 11(对照)Fed XS 11 (CK)	20.0	2	0 b
二化螟血淋巴 HaemolymphHHHHaemolymph of SSB			
取食 KMD1 Fed KMD1	100.0	3	3.5 ± 1.0 a
取食秀水 11(对照)Fed XS 11 (CK)	100.0	3	1.0 ± 0.3 b
拟水狼蛛 *Pirata subpiraticus* (WS)			
捕食供试眼蝶[2)] Consumed *M. gotama* tested[2)]	71.9	4	664.6 ± 118.5 a
捕食供试眼蝶[3)] Consumed *M. gotama* tested[3)]	56.1	2	14.6 ± 8.7 b
捕食对照眼蝶 Consumed *M. gotama* (CK)	72.4	2	0 c
捕食供试 SSB[4)] Consumed SSB tested[4)]	58.1	3	11.5 ± 6.0 a
捕食对照 SSB (CK) Consumed SSB (CK)	68.2	2	0 b

1)表中数据为平均值 ± 标准误，数据后有不同字母表示差异显著($P<0.05$,新复极差法)，下同 The data in the table are mean ± *SE*, and those followed by different letters differ at $P<0.05$ by Duncan's multiple range test. The same for the following table and figures. 2)取食了 1 头在 KMD1 上饲养的 2～3 龄稻眼蝶幼虫 Consumed a 2nd－3rd instar larva of *M. gotama* reared on KMD1. 3)已取食 1 头在 KMD1 上饲养的稻眼蝶 2～3 龄幼虫，然后饥饿 10 天. Starved for 10 days after consuming a larva of *M. gotama* reared on KMD1. 4)取食了 1 头在 KMD1 饲喂 36 h 的 5 龄二化螟幼虫 Consumed a 5th instar larva of SSB reared on KMD1 for 36 h.

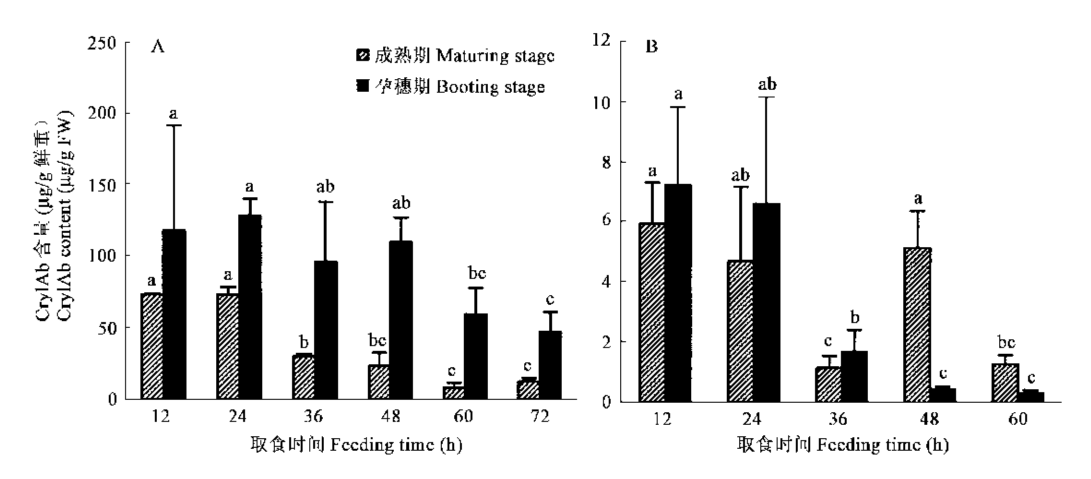


图 1　连续取食 KMD1 不同时间(A)和取食 KMD1 36 h 后移至秀水 11(对照)上继续取食不同时间(B)的二化螟幼虫体内 Cry1Ab 毒蛋白含量

Fig. 1　Cry1Ab contents in the stripped stem borer (SSB), *Chilo suppressalis* continuously feeding on KMD1 for different times (A) and continuously feeding on Xiushui 11 (CK) for different times after feeding on KMD1 for 36 h (B)

相同颜色柱上方有相同字母表示取食孕穗期或成熟期稻茎各不同时间的 Cry1Ab 含量差异不显著(新复极差法，$P>0.05$)，下同。

The same letter above bars with the same shadow showing no significant difference among feeding times ($P>0.05$) at the rice booting stage or maturing stage by Duncan's multiple range test. The same for the following figure.

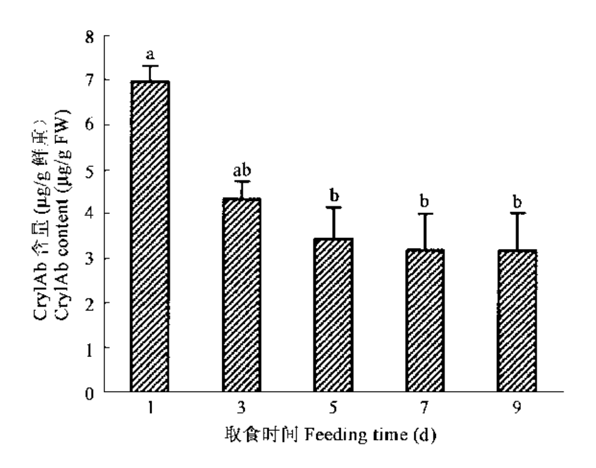


图 2 连续取食 KMD1 不同时间的稻眼蝶幼虫的 Cry1Ab 含量

Fig. 2 Cry1Ab contents in *Mycalesis gotama* larva feeding on KMD1 for different times

表 2 稻眼蝶取食 KMD1 两天后移至秀水 11 上继续取食不同时间体内 Cry1Ab 含量

Table 2 Cry1Ab content in *M. gotama* feeding on Xiushui 11 (CK) for different times after feeding on KMD1 for two days

取食天数 (d) Feeding time	幼虫重量(mg) Larval weight (FW)	重复数 *n*	Cry1Ab (ng/g 鲜重) Cry1Ab (ng/g FW)
0	46.8	3	5 037.2 ± 1 019.3 a
2	103.3	3	121.2 ± 49.2 b
4	112.3	4	7.9 ± 1.8 c
6	170.5	4	0.7 ± 0.1 d
8	224.6	4	0.9 ± 0.2 d

2.5 飞虱、稻蚜和拟水狼蛛中 Cry1Ab 含量

取食 KMD1 的褐飞虱、稻蚜以及饲喂取食过 KMD1 的二化螟、稻眼蝶幼虫的拟水狼蛛体内均含有一定浓度的 Cry1Ab，表明 Cry1Ab 毒蛋白可沿转基因水稻-害虫-天敌食物链传递。褐飞虱的 Cry1Ab 含量是稻蚜的 2 倍多。拟水狼蛛以饲喂取食 1 头 KMD1 稻眼蝶幼虫后的含量最高，是饲喂取食 1 头 KMD1 稻眼蝶幼虫后饥饿 10 天和饲喂取食 1 头 KMD1 二化螟幼虫的 45～60 倍，分别约 664.6，14.6，11.5 ng/g 鲜重；在它们各自的对照处理中均未检出 Cry1Ab(表 1)。

3 讨论

克螟稻不同生育期和不同组织中的 Cry1Ab 毒蛋白表达量存在差异，孕穗期 Cry1Ab 表达量最高，抽穗期最低，在空间上，在同一主茎或分蘖上，不同叶位、叶鞘及茎段的 Cry1Ab 蛋白含量均不同(吴刚等，2001)。本试验测定的孕穗期茎 Cry1Ab 含量约为成熟期茎的两倍，但仅为孕穗期叶片中的 48.1%，与已报道的结果一致。从本实验结果可以看出，Cry1Ab 可沿食物链传递，但在传递过程中逐级下降的程度因不同害虫而异。下降程度最大的是两种同翅目害虫褐飞虱和稻蚜，其体内的 Cry1Ab 浓度分别为 KMD1 茎内的 2.54‰和 0.48‰；同为鳞翅目害虫的二化螟幼虫和稻眼蝶幼虫分别取食孕穗期 KMD1 茎和叶 48 h 后呈显著不同的下降，分别为上一营养级的 2.55‰和 56‰。这些现象可能与害虫对 Cry1Ab 毒蛋白的敏感性和取食特性差异有关。KMD1 对 5 龄二化螟的 LT_{50} 为 96 h，而在本试验中 3 龄稻眼蝶幼虫在 KMD1 上能够发育并完成一个世代(未发表资料)；稻飞虱与稻蚜仅吸食汁液，而二种鳞翅目昆虫取食茎、叶等组织，且稻眼蝶幼虫个体大，取食量大，因而体内可能积累更多的 Cry1Ab 毒蛋白。这一结果与 Head 等(2001)的研究结果类似，欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis*、玉米穗虫 *Helicoverpa zea* 和小地虎 *Agrotis ipsilon* 幼虫体内的 Cry1Ab 浓度分别降为转基因玉米中 Cry1Ab 浓度的 6.94‰、14.71‰和 16.67‰。而 Cry1Ab 经害虫传递给第三营养级的捕食者拟水狼蛛，又分别下降了 88%(取食 KMD1 二化螟)和 84.7%(取食 KMD1 稻眼蝶)。

在本实验中二化螟幼虫的血淋巴内检测到 Cry1Ab。姜永厚等(2004)研究发现二化螟绒茧蜂 *Apanteles chilonis* 寄生于取食转 *cry1Ab* 基因水稻的二化螟幼虫后，其结茧率和寄生率均显著低于对照，对寄生蜂的大小也有一定影响，蜂的茧长和前翅长均小于对照。二化螟绒茧蜂卵和幼虫寄生在二化螟幼虫的血淋巴中，因此，转运至血淋巴中的 Cry1Ab 对绒茧蜂可能有直接影响。但还需进一步研究，以区分 Cry1Ab 毒蛋白的直接作用和因取食 KMD1 引起寄主二化螟幼虫营养质量降低或发育变缓所带来的间接作用的相对重要性。Down 等(1999)在取食转 STI 基因植物的番茄夜蛾 *Lacanobia oleracea* 幼虫血淋巴中检测到这种蛋白酶抑制剂，因而可能传递给其体内的寄生蜂幼虫。这些结果表明 Cry1Ab 可以沿食物链传递，从而对高营养级的捕食者或寄生者产生一定的影响。

Cry1Ab 毒蛋白是否会如 DDT 一样在生物和环境中残留是值得研究的课题。对转基因作物中表达的及纯化的 Cry1Ab 毒蛋白在土壤中的降解情况，已有许多研究(Sims and Holden, 1996; Palm *et al.*, 1994, 1996; Sims and Ream, 1997; Tapp and Stotzky,

1995，1998；Koskella and Stotzky，1997；Saxena and Stotzky，2001；Saxena *et al*.，2002；Zwahlen *et al*.，2003;吴伟祥等，2003），但对 Cry1Ab 毒蛋白在生物内的残留还研究不多。本实验对转基因水稻中表达的 Cry1Ab 毒蛋白在二化螟幼虫和稻眼蝶幼虫体内的积累和降解进行了研究，发现 Cry1Ab 毒蛋白在二化螟和稻眼蝶体内的含量随取食 KMD1 时间的延长反而下降。这可能是由于随取食 KMD1 时间的延长，个体生活力下降，取食水稻组织量下降，使摄入的 Cry1Ab 毒蛋白较少所致；对稻眼蝶而言，还可能是由于它迅速增长的体重。在二化螟幼虫和稻眼蝶幼虫的粪便中均检测到 Cry1Ab，而且浓度仅比各自食料中的 Cry1Ab 浓度(鲜重)低 80.7%和 22.7%，表明食料和 Cry1Ab 很快通过肠道并被排出体外。两种害虫取食 KMD1 一定时间移至对照品种上继续取食一段时间，Cry1Ab 含量迅速下降，尤其是稻眼蝶，至第 4 天已降为初始浓度的 1.57‰，可能与稻眼蝶幼虫迅速增长的体重以及排出粪便中毒蛋白含量高有关。对比连续取食 KMD1 和取食 KMD1 一定时间后移至对照秀水 11 上的二化螟幼虫和稻眼蝶幼虫体内 Cry1Ab 积累动态表明，虽然前期在虫体内有一定的积累，但其降解速度较快。因此，Cry1Ab 毒蛋白在害虫体内长期积累的可能性不大。

参 考 文 献（References）

Armer CA，Berry RE，Kogan M，2000. Longevity of phytophagous heteropteran predators feeding on transgenic Btt-potato plants. *Entomol. Exp. App.*，95(3)：329－333.

Down RE，Ford L，Mosson HJ，Fitches E，Gatehouse JA，Gatehouse AMR，1999. Protease activity in the larval stage of the parasitoid wasp，*Eulophus pennicornis*（Nees）（Hymenoptera：Eulophidae）：effects of protease inhibitors. *Parasitology*，119(2)：157－166.

Dutton A，Klein H，Romeis J，Bigler F，2002. Uptake of Bt-toxin by herbivores feeding on transgenic maize and consequences for the predator *Chrysoperla carnea*. *Ecol. Entomol.*，27(4)：441－447.

Frutos R，Rang C，Royer M，1999. Managing resistance to plants producing *Bacillus thuringiensis* toxins. *Crit. Rev. Biotechnol.*，19：227－276.

Head G，Christopher RB，Mark EG，Duan JJ，2001. Cry1Ab protein levels in phytophagous insects feeding on transgenic corn：implications for secondary exposure risk assessment. *Entomol. Exp. App.*，99(1)：37－45.

Hilbeck A，Baumgartner M，Fried PM，Bigler F，1998a. Effects of transgenic *Bacillus thuringiensis* corn-fed prey on mortality and development time of immature *Chrysoperla carnea*（Neuroptera：Chrysopidae）. *Environ. Entomol.*，27(2)：480－487.

Hilbeck A，Moar WJ，Pusztai-Carey M，Filippine A，Bigler F，1998b. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin to the predator *Chrysoperla carnea*（Neuroptera：Chrysopidae）. *Environ. Entomol.*，27(5)：1 255－1 263.

Hilbeck A，Moar WJ，Pusztai-Carey M，Filippine A，Bigler F，1999. Prey-mediated effects of Cry1Ab toxin and protoxin and Cry2A protoxin on the predator *Chrysoperla carnea*. *Entomol. Exp. App.*，91(2)：305－316.

Howald R，Zwahlen C，Nentwig W，2003. Evaluation of Bt oilseed rape on the non-target herbivore *Athalia rosae*. *Entomol. Exp. App.*，106(2)：87－93.

Jepson PC，Croft BA，Pratt GE，1994. Test systems to determine the ecological risks posed by toxin release from *Bacillus thuringiensis* genes in crop plants. *Mol. Ecol.*，3：81－89.

Jiang YH，Fu Q，Cheng JA，Ye GY，Bai YY，Zhang ZT，2004. Effects of transgenic Bt rice on the biological characteristics of *Apanteles chilonis*（Munakata）（Hymenoptera：Braconidae）. *Acta Entomol. Sin.*，47(1)：124－129.［姜永厚，傅强，程家安，叶恭银，白耀宇，张志涛，2004. 转 Bt 基因水稻对二化螟绒茧蜂生物学特性的影响. 昆虫学报，47(1)：124－129］

Koskella J，Stotzky G，1997. Microbial utilization of free and clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after incubation with microbes. *Appl. Environ. Microbil.*，63(9)：3 561－3 568.

Li AX，Li CH，1996. Stripped Stem Borer and Its Control. Beijing：Chinese Agricultural Press. 1－10.［李安详，李慈厚，1996. 二化螟及其防治. 北京：中国农业出版社. 1－10］

Lundgren JG，Wiedenmann RN，2002. Coleopteran-specific Cry3Bb toxin from transgenic corn pollen does not affect the fitness of a nontarget species，*Coleomegilla maculata* De Geer（Coleoptera：Coccinellidae）. *Environ. Entomol.*，31(6)：1 213－1 218.

Nap JP，Metz PLJ，Escaler M，Conner AJ，2003. The release of genetically modified crops into the environment. *Plant J.*，33(1)：1－18.

Palm CJ，Donegan KK，Harris D，Seidler RJ，1994. Quantification in soil of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ-endotoxin from transgenic plants. *Mol. Ecol.*，3：145－151.

Palm CJ，Schaller DL，Donegan KK，Seidler RJ，1996. Persistence in soil of transgenic plant produced *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* δ-endotoxin. *Can. J. Microbiol.*，42(12)：1 258－1 262.

Raps A，Kehr J，Gugerli P，Moar WJ，Bigler F，Hilbeck A，2001. Immunological analysis of phloem sap of *Bacillus thuringiensis* corn and of the nontarget herbivore *Rhopalosiphum padi*（Homoptera：Aphididae）for the presence of Cry1Ab. *Mol. Ecol.*，10(2)：525－533.

Saxena D，Flores S，Stotzky G，2002. Vertical movement in soil of insecticidal Cry1Ab protein from *Bacillus thuringiensis*. *Soil Biol. Biochem.*，34(1)：111－120.

Saxena D，Stotzky G，2001. Bt toxin uptake from soil by plants. *Nature Biotechnol.*，19：199.

Schnepf E，Crickmore N，Van Rice J，Lereclus D，Baum J，Feitelson J，Zeigler DR，Dean DH，1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*，62：775－806.

Schuler TH，Poppy GM，Kerry BR，Denholm L，1999. Potential side effects of insect-resistant transgenic plants on arthropod natural enemies. *TIBTECH*，17(5)：210－216.

Shang ZZ, Wang YS, Zhou YH, 1979. A method of rearing of *Chilo suppressalis*. *Acta Entomol. Sin.*, 22(2): 164 167. [尚稚珍,王银淑,邹永华,1979. 二化螟饲养方法的研究. 昆虫学报,22(2): 164 – 167]

Shelton AM, Zhao JZ, Roush RT, 2002. Economic, ecological, food safety, and social consequences of the deployment of *Bt* transgenic plants. *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 845 – 851.

Sims SR, Holden LR, 1996. Insect bioassay for determining soil degradation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* Cry1A(b) protein in corn tissue. *Environ. Entomol.*, 25(3): 659 – 664.

Sims SR, Ream JE, 1997. Soil inactivation of the *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryⅡA insecticidal protein within transgenic cotton tissue: laboratory microcosm and field studies. *J. Agric. Food Chem.*, 45(4): 1 502 – 1 505.

Tang QL, Feng MG, 2002. DPS© Data Processing System for Practical Statistics. Beijing: Science Press. 33 – 59. [唐启义,冯明光,2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统. 北京:科学出版社. 33 – 59]

Tapp H, Stotzky G, 1995. Dot blot enzyme-linked immunosorbent assay for monitoring the fate of insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61(2): 602 – 609.

Tapp H, Stotzky G, 1998. Persistence of the insecticidal toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 30(4): 471 – 476.

Wang HQ, Yan HM, 1996. Research on the utilization and ecology of paddy field spiders. *Sci. Agric. Sin.*, 29(5): 68 – 75. [王洪全,颜亨梅,1996. 中国稻田蜘蛛生态与利用研究. 中国农业科学,29(5): 68 – 75]

Williamson E, 1992. Environmental risks from the release of genetically modified organisms (GMO) – the need for molecular ecology. *Mol. Ecol.*, 1: 3 – 8.

Wu G, Cui HR, Shu QY, Ye GY, Xie XB, Xia YW, Gao MW, Illimar A, 2001. Expression patterns of *cry1Ab* gene in progenies of "Kemingdao" and the resistance to stripped stem borer. *Sci. Agric. Sin.*, 34(5): 496 – 501. [吴刚,崔海瑞,舒庆尧,叶恭银,谢小波,夏英武,高明尉,Illimar Altosaar,2001. "克螟稻"后代 *cry1Ab* 基因表达特性及其对二化螟抗性的研究. 中国农业科学,34(5): 496 – 501]

Wu GR, Hu C, Xu ZP, Tao LY, Huang CW, Wan YL, Wang XS, 1987. Brown Planthopper. Beijing: Agriculture Press. 1 – 3. [巫国瑞,胡萃,许绍朴,陶林勇,黄次伟,阮义理,万兴生,1987. 稻飞虱. 北京:农业出版社. 1 – 3]

Wu WX, Ye QF, Min H, 2003. Enzyme activities variation in flooded soils amended with Bt transgenic rice straws at different stages of plant development. *Acta Ecologica Sinica*, 23(11): 2 353 – 2 358. [吴伟祥,叶庆富,闵航,2003. 不同生长期转 Bt 基因水稻秸秆还土对淹水土壤酶活性的影响. 生态学报,23(11): 2 353 – 2 358]

Zhang GF, Wan FH, Guo JY, Hou ML, 2004. Expression of Bt toxin in transgenic Bt cotton and its transmission through pests *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii* to natural enemy *Propylaea japonica* in cotton plots. *Acta Entomol. Sin.*, 47(3): 334 – 341. [张桂芬,万方浩,郭建英,侯茂林,2004. Bt 毒蛋白在转 Bt 基因棉中的表达及其在害虫-天敌间的转移. 昆虫学报,47(3): 334 – 341]

Zwahlen C, Hilbeck A, Gugerli P, Nentwig W, 2003. Degradation of the Cry1Ab protein within transgenic *Bacillus thuringiensis* corn tissue in the field. *Mol. Ecol.*, 12(3): 765 – 775.

(责任编辑:袁德成)

更 正

因原稿笔误,本刊 47(1)第 124 页姜永厚等"转 Bt 基因水稻对二化螟绒茧蜂生物学特性的影响"一文的第五作者署名"白耀羽"有误,应改为"白耀宇",特此更正。